Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg
Vorstand: Professor Dr. M. Knorr

Die Wirkungssteigerung schwach bakterizider Alkohole durch Lösungsmittel

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der Hohen Medizinischen Fakultät
der Julius - Maximilians - Universität Würzburg
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde

vorgelegt von:

Eitel Breustedt, Zahnarzt aus Steinach Thürw.

Würzburg 1937

Referent: Professor Dr. M. Knorr

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät, Würzburg

Meiner lieben Mutter!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549802_0194

Im Anschluß an die Untersuchungen verschiedener Lösungsmittel wie Trichloräthylen, Perchloräthylen, Äthylenchlorid, Methylenchlorid, Methylglycolacetat und Dioxan auf ihre desinfizierende Wirkung, durchgeführt von Nickel, Jochem, Funke und Greveling am Würzburger Hygienischen Institut, wurde mir die Aufgabe zuteil, ähnliche Versuche mit Äthylglycolacetat, Methylglycol und Methylenchlorid anzustellen. Während über die beiden ersten Mittel bisher noch nichts bekannt gewesen ist, handelte es sich bei Methylenchlorid um ergänzende Versuche der Arbeiten Grevelings.

Die bisherigen Ergebnisse der Untersuchungen dieser Derivate des Methans, Äthans und Äthylens zeigten, daß den reinen Mitteln keine desinfizierende Wirkung eigen war, während sie als Zusatz zu 48%igem Alkohol dessen Wirkung in verschiedenen Fällen bedeutend gesteigert haben.

Bei den von mir angestellten Untersuchungen über die desinfizierende Wirkung der genannten Mittel handelte es sich um Suspensionsversuche, deren Technik im Folgenden erläutert werden soll.

Es wurden dazu von mir 7 (später 8) Stämme des Micrococcus pyogenes aureus verwendet, die sämtlich aus eitrigen Prozessen von Menschen gezüchtet wurden und auf hellen Blutplatten starke Hämolyse zeigten.

Von diesen wurden 24stündige Schrägagarkulturen angelegt, die mit je 1½ ccm physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt wurden. Diese Aufschwemmung wurde durch Glaswatte filtriert, um gröbere Flocken zurückzuhalten.

In sterilen Blockschälchen wurde nun zu je 1 ccm der Aufschwemmung die gleiche Menge des betreffenden Mittels gegeben. Dadurch wurden die gewünschten Konzentrationen des Alkohols und der ihm beigefügten Mittel erzielt. So wurde der 96%ige Alkohol zu 48%igem verdünnt, und aus 6%igem Äthylglycolacetatzusatz wurde ein nur 3%iger usw. In einem Versuch wurde das Mittel rein zugesetzt, um seine Wirkung als solches zu zeigen.

Zu jedem einzelnen Versuch wurde jedoch stets ein Kontrollversuch mit 48%igem Alkohol angestellt, damit die gleichzeitige Wirkung bei dem betreffenden Zusatz verglichen werden konnte.

Der 96%ige Alkohol, sowie der mit den Zusätzen versehene waren stets unvergällt.

Von dem so erhaltenen Gemisch in den Blockschälchen wurde nun nach 1, 5, 10, 15 und 20 Minuten je eine Öse zu Leberbrühe und 3%iger Traubenzuckerbrühe gegeben. Hierbei war besonders darauf zu achten, daß die Bakterienmenge möglichst gleichmäßig verteilt war, denn wie Lange zeigte, sind dichte Aufschwemmungen schwerer durch Desinfektion abzutöten. Dies ist der Fall, wenn es zu Ausflockungen kommt, weshalb solche durch mechanisches Umrühren zu vermeiden versucht werden mußte.

Es war allerdings nicht so, daß direkte Beziehungen der Stärke der Ausflockung zu den Abtötungszeiten festgestellt werden konnten.

Die beimpften Röhrchen wurden dann im Brutschrank bei 37° C 72 Stunden und länger bebrütet. Es zeigte sich jedoch durchwegs, daß nach 48 Stunden kaum noch ein Bakterienwachstum zu erwarten war.

Alle Reagenzröhrchen, die eine Trübung zeigten, wurden auf die Bakterienart untersucht durch Ausstreichen auf helle Blutplatten. Außerdem wurden Grampräparate angefertigt.

Die Temperatur während der einzelnen Versuche war schwankend und ist jeweils angeführt.

Um über das Resultat der Versuche überhaupt etwas aussagen zu können, wurden sie mit jedem Stamm mindestens dreimal durchgeführt. Dabei sollte aber nicht die mittlere Abtötungszeit der Keime herausgefunden werden. Es konnte nämlich, ebenso wie in den vorhergegangenen Versuchen festgestellt wurde, auch hier wieder gefunden werden, daß bei Verwendung der gleichen Stämme und der gleichen Konzentrationen des Mittels die Resultate manchmal ziemlich stark voneinander abwichen. Das Ziel mußte deshalb bei allen Versuchen sein, festzustellen, in welcher Zeit auch die resistentesten Keime der verschiedenen Stämme abgetötet wurden.

Es sollen nun die einzelnen Mittel und die damit angestellten Versuche besprochen werden.

Äthylglycolacetat von dem spezifischen Gewicht 0,9810, der Siedegrenze 156—156,5° C und der Strukturformel

$$C_2H_5\text{-}C\text{-}C\text{-}CH_3COO$$
$$H_2H_2$$

ist eine etwas gelbliche, brennbare Flüssigkeit, die einen schwach süßlichen Geruch aufweist und auf Lackmus neutral reagiert. In Alkohol und in Wasser ist sie in jedem Verhältnis mischbar.

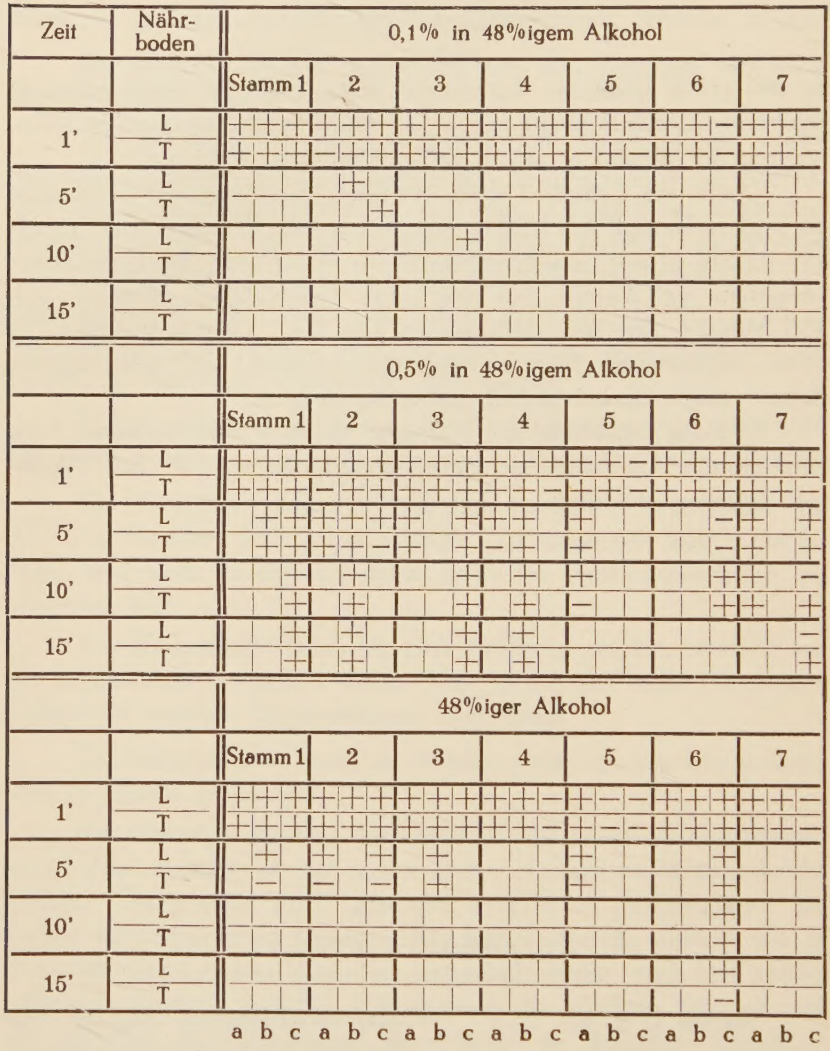
Ueber die Giftigkeit stellte Rösser in neuester Zeit Versuche an und fand, daß bei Injektionsversuchen mit Mäusen die Wirkung von 0,0046 gr pro gr Körpergewicht ab tödlich war. Bei Inhalationsversuchen mit Katzen trat erst nach zweimaligem Versuch von 135 Minuten der Tod nach einem Tag ein. (Angaben über die dabei eingeatmeten Mengen sind nicht bekannt.) Der pathologische Befund zeigte danach jedoch nichts besonderes.

Welche Ergebnisse die Versuche mit den verschiedenen Konzentrationen von Äthylglycolacetat zeigten, ist aus den nun folgenden Tabellen ersichtlich.

Zeichenerklärung:

Stamm 1, 2, 3, ...	=	Die verschiedenen Stämme von Staphylococcus pyogenes aureus
L	=	Leber-Leberbrühe
T	=	3%ige Traubenzuckerbrühe
a, b, c,	=	senkrecht übereinander die an gleichen Tagen durchgeführten Versuche.

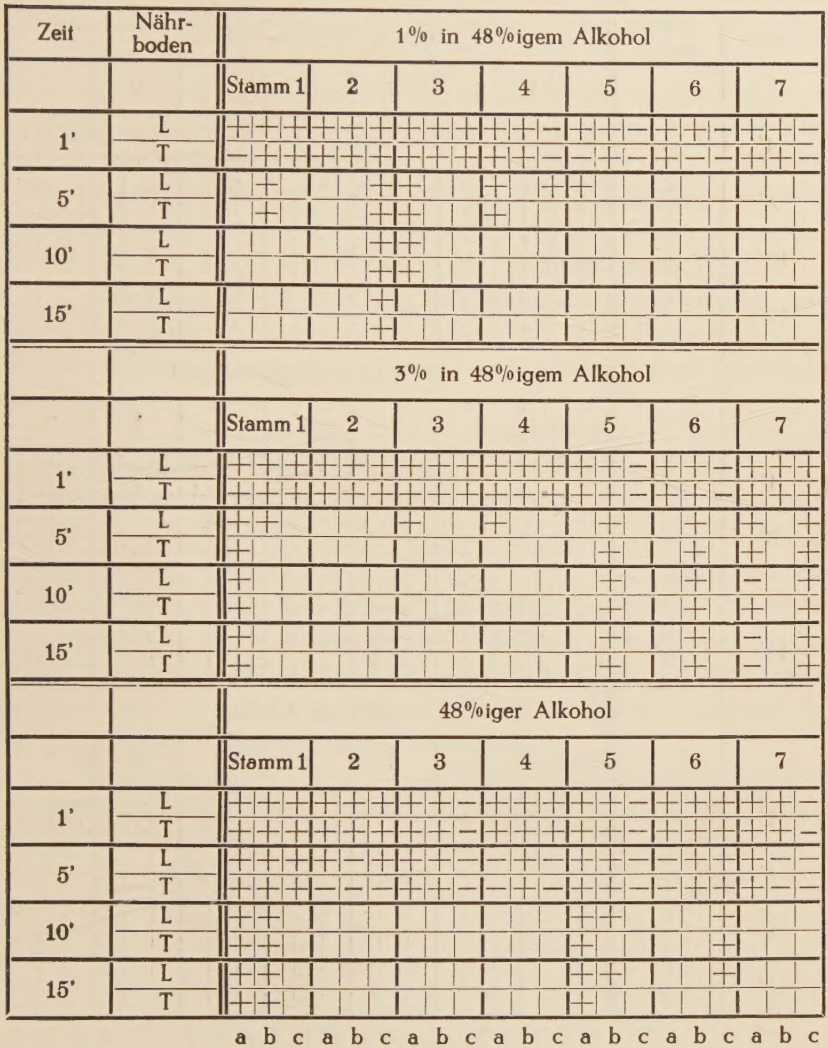
Abb. 1 Äthylglycolacetat in alkoholischer Lösung.



Temp. : 19,5°—20° C

a = 4. Nov. 36.
b = 6. Nov. 36.
c = 9. Nov. 36.

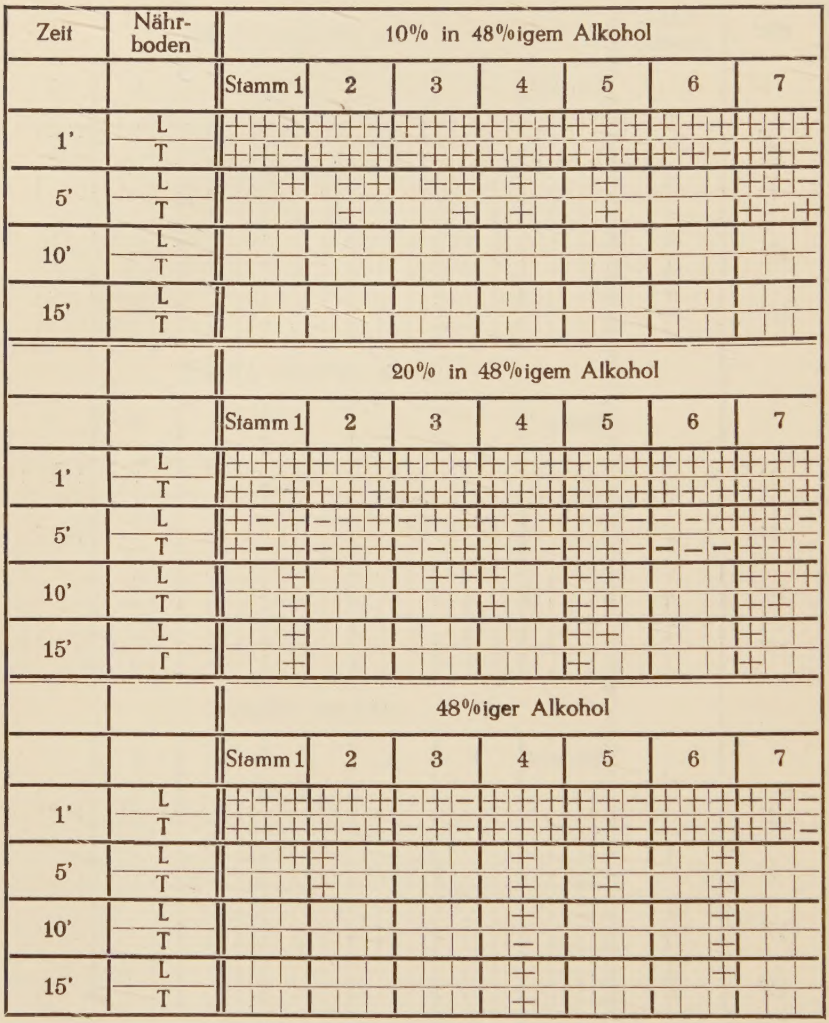
Abb. 2 Äthylglycolacetat in alkoholischer Lösung.



Temp. : 19°—19,6° C

a = 11. Nov. 36.
b = 12. Nov. 36.
c = 14. Nov. 36.

Abb. 3 Äthylglycolacetat in alkoholischer Lösung.



Temp. : 19,8° C

a = 17. Nov. 36.
b = 20. Nov. 36.
c = 22. Nov. 36.

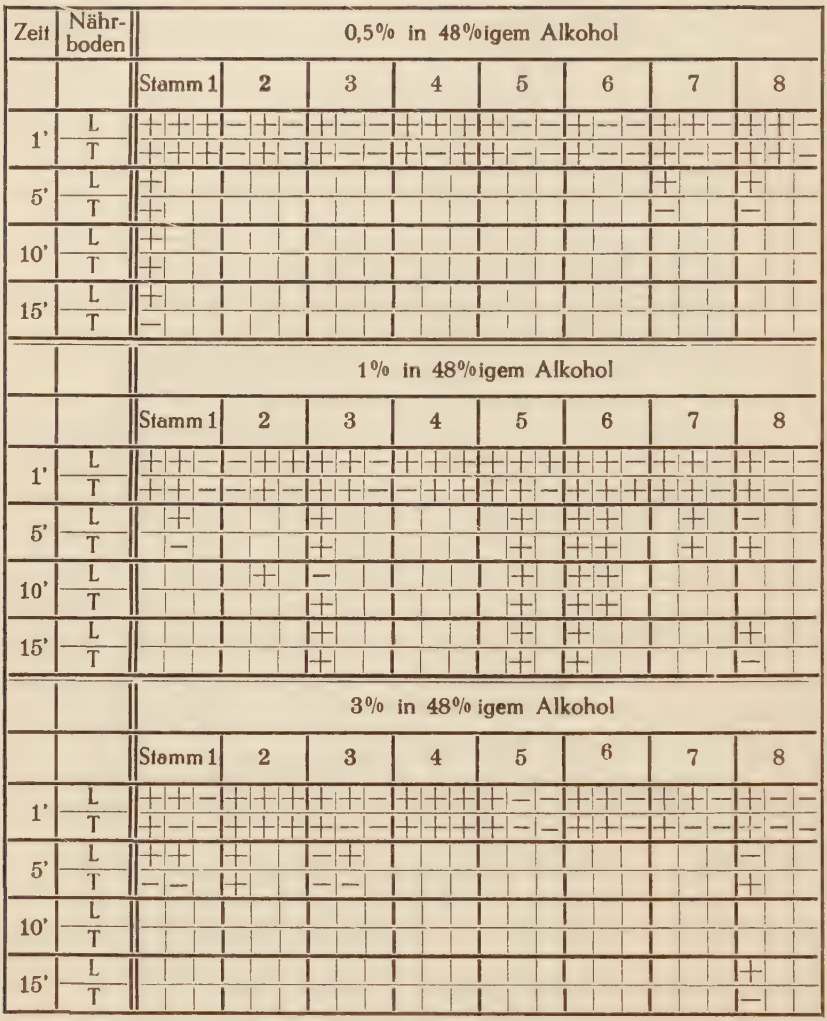
Äthylglycolacetat, welches als reines Mittel überhaupt keine desinfizierende Wirkung hatte, zeigte, in verschiedenen Konzentrationen zu 48%igem Alkohol zugesetzt, wechselndes Verhalten. Während bei einem Zusatz von 0,1 % eine geringe Verbesserung zu erzielen war, verschwand diese schon bei 0,5 %igem Zusatz wieder. Dagegen war bei 1 % wieder und auch noch bei 3 % eine bessere desinfizierende Wirkung im Durchschnitt zu beobachten als mit Alkohol allein; allerdings als recht unzuverlässig zu bezeichnen. Im Vergleiche dazu schien es bei dem Zusatz von 20 % sogar, als ob das Wachstum der Keime durch das Mittel gefördert würde.

Zusammenfassend ist über Äthylglycolacetat zu sagen, daß es sich in seiner Wirkungsweise kaum von dem ihm nahestehenden Methylglycolacetat unterscheidet, das früher schon untersucht worden ist.

Ein weiteres Mittel, das in der gleichen Weise zu prüfen war, ist Methylglycol (Monomethyläthylenglycol) $HO\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}OCH_3$ mit einer Siedegrenze von 115°– 130° C und einer Dichte $D\ \frac{15}{15}$ 0,96928. Es ist eine neutrale, farblose und brennbare Flüssigkeit mit unschädlichem Geruch. Methylglycol ist sowohl mit Wasser und Alkohol, als auch mit Äther und Benzol in jedem Verhältnis mischbar. Technisch findet es Verwendung als Lösungs- und Weichhaltungsmittel für Celluloseester. Sonst ist bisher über dieses Mittel nichts bekannt, und es sollte deshalb, ebenso wie im Vorhergehenden, die desinfizierende Wirkung untersucht werden.

Zu diesem Zwecke wurden die gleichen Versuchsanordnungen getroffen und die nun folgenden Tabellen wollen die Ergebnisse zeigen.

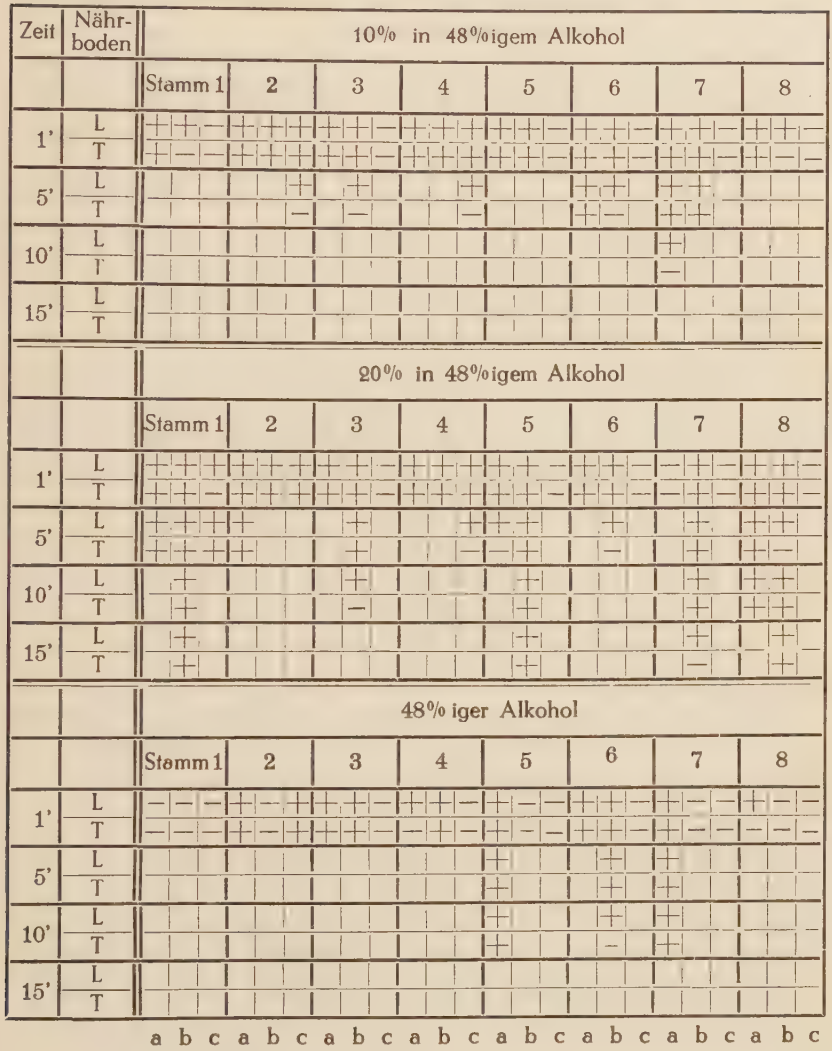
Abb. 4 Methylglycol in alkoholischer Lösung.



Temp. : 19°—20,5° C

a = 2. Dez. 36.
b = 4. Dez. 36.
c = 7. Dez. 36

Abb. 5 Methylglycol in alkoholischer Lösung.



a = 2. Dez. 36.
b = 4. Dez. 36.
c = 7. Dez 36

Es wurden in diesen Versuchen die Zusätze von 0,5, 1, 3, 10 und 20 % Methylglycol zu 48%igem Alkohol gewählt, wovon der 0,5%ige der Wirkung des Alkohols noch am nächsten kam. In keinem der Fälle war jedoch eindeutig eine Verbesserung festzustellen, wenn man davon absieht, einzelne Versuche zu beurteilen, was ja, wie oben schon festgestellt wurde, ohne Bedeutung sein muß. In einigen Fällen, besonders stark bei 20%igem Zusatz, zeigte sich sogar Wachstumsförderung, wie sie vorher bei Äthylglycolacetat auch festgestellt werden konnte.

Das nun noch zu untersuchende Mittel war Methylenchlorid CH_2-CH_2, eine farblose, nicht brennbare Flüssigkeit mit süßlichem, chloroformähnlichem Geruch. Mol. Gew. 84,94, Spez. Gew. 1,32; Siedepunkt 40°—41° C und Wasserlöslichkeit 13,22 gr in 1 Liter.

Als Narkotikum hat Methylenchlorid eine verhältnismäßig rasch vorübergehende Wirkung und geringe Giftigkeit, während seine Reizwirkung allerdings stärker ist als bei Chloroform. (Ein chemisch reines Präparat findet als „Solaesthin" Verwendung zur Rauschnarkose.) Vergiftungen mit technischem Methylenchlorid sind bisher beim Menschen noch nicht beobachtet worden. Bei Tieren konnten dagegen fettige Degeneration von Leber und Nieren, ähnlich wie bei Chloroform, festgestellt werden. (Bei Solaesthin Organbefund normal.)

Da über dieses Mittel bereits von Greveling Untersuchungen angestellt wurden, sollen nun dessen Ergebnisse kurz vorausgeschickt werden.

Es wurde dabei gefunden, daß sich bei Zusätzen zu 32%igem Alkohol zwar bei 4 % eine Verbesserung zeigte, die allerdings nicht sicher beurteilt werden konnte, da dem 32%igen Alkohol selbst eine zu geringe desinfizierende Kraft eigen ist.

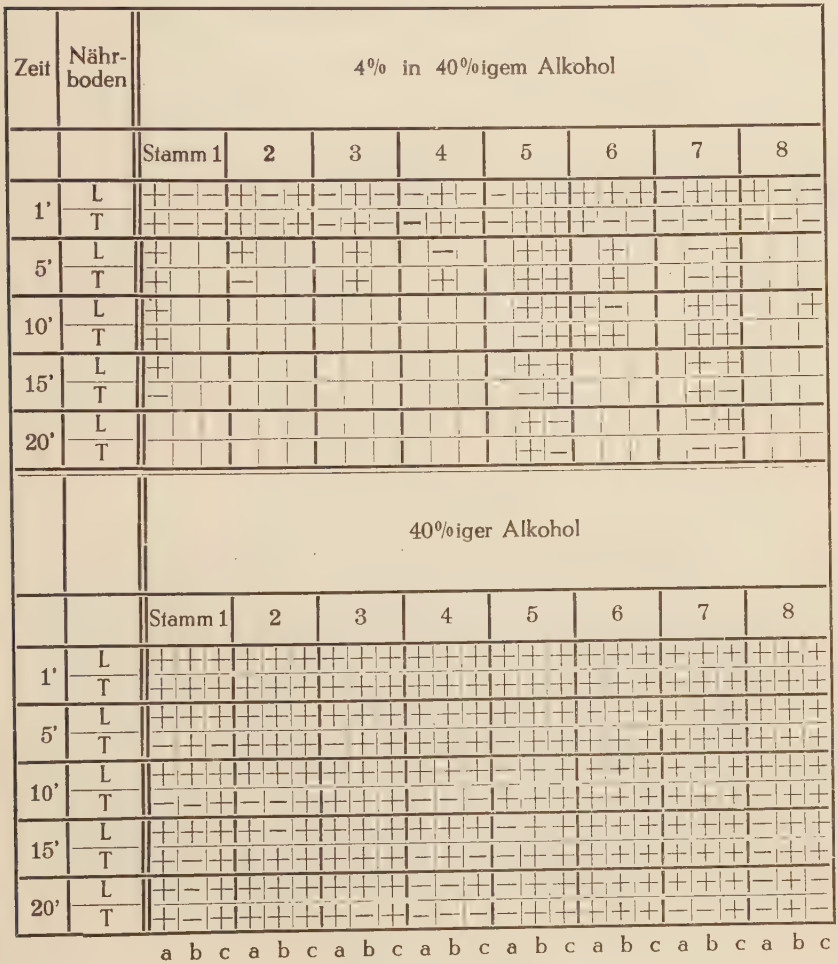
Dagegen konnte Greveling feststellen, daß eine deutliche Verbesserung der Wirkung des 40%igen Alkohols eintrat, wenn Methylenchlorid 3- bis 5%ig zugesetzt wurde. Bei 4% Zusatz konnte nur in einem Falle noch nach 1 Minute Wachstum beobachtet werden.

Bei den vorliegenden Ergebnissen handelte es jedoch nur um einige wenige Versuche, die eine sichere Beurteilung des Mittels nicht zuließen. Es war deshalb notwendig, an Hand umfangreicherer Versuchsreihen eine Auswertung jener Feststellungen zu treffen.

Es wurden zu diesen Versuchen ebenfalls wieder die Staphylococcen-Stämme 1 bis 8 verwendet und Suspensionsversuche mit 4- und 5%igem Methylenchlorid angestellt unter jeweiliger Kontrolle mit 40%igem Alkohol allein.

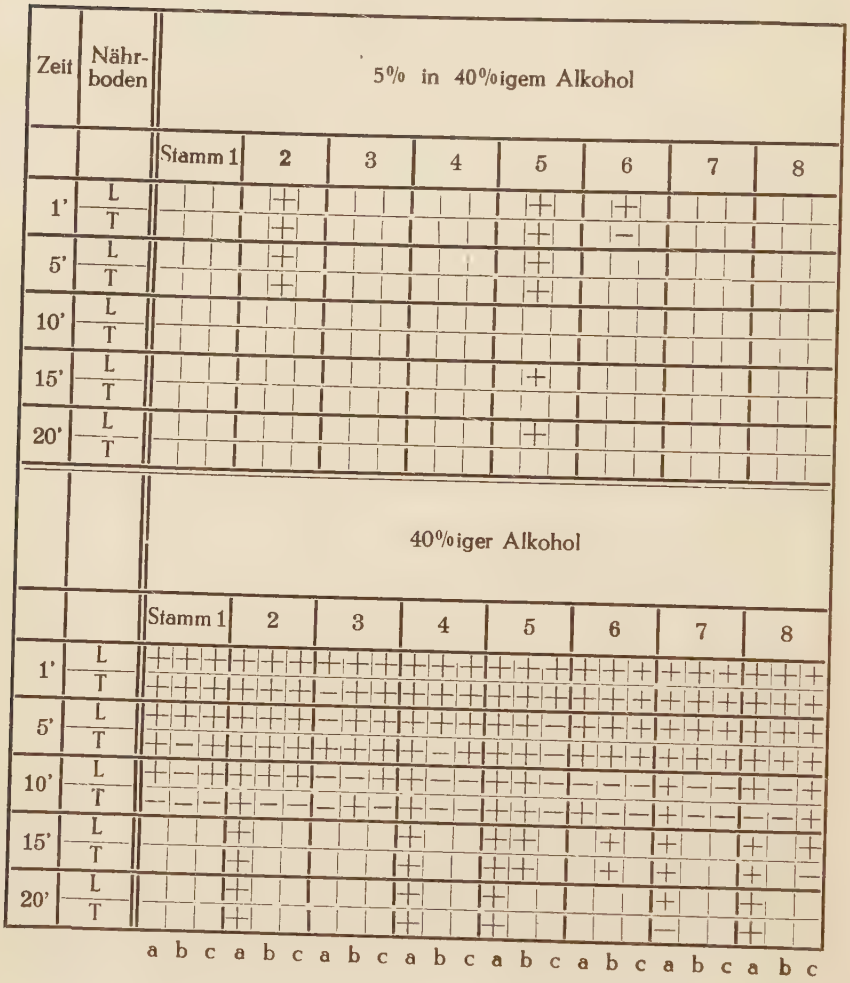
Die Abb. 6 bis 9 zeigen die Versuchsergebnisse der stets dreimaligen Versuche.

Abb. 6 Methylenchlorid in alkoholischer Lösung.



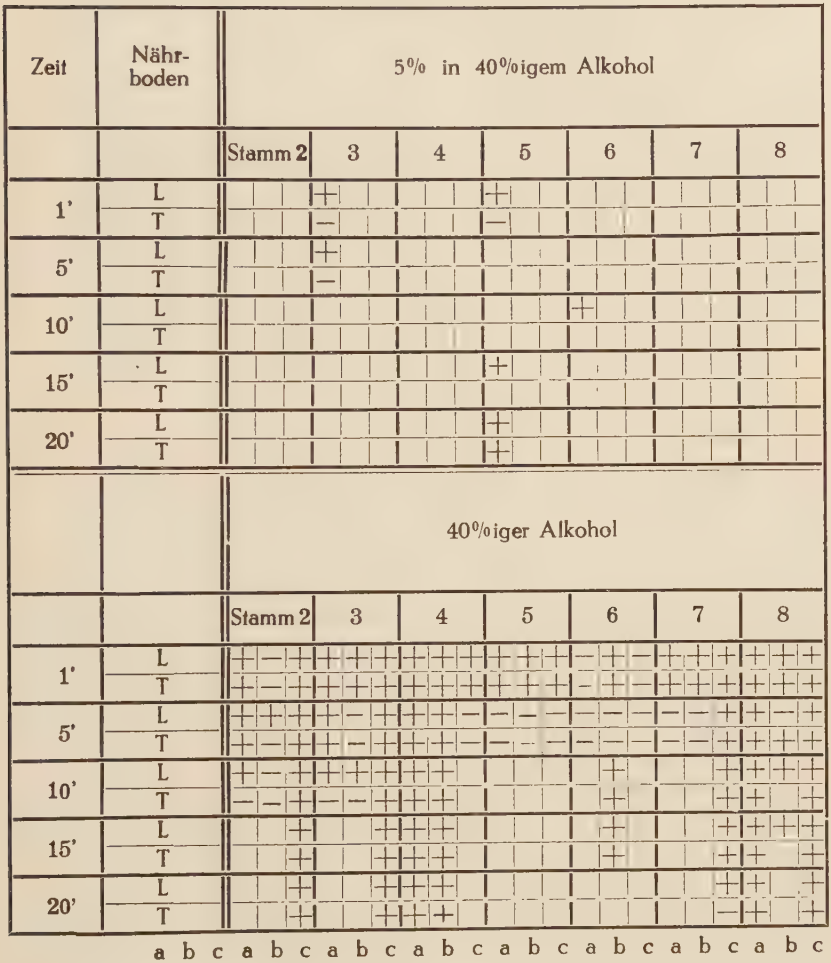
a = 9. Dez. 36. Temp. : 18,6° C
b = 11. Dez. 36. Temp. : 17,8° C
c = 14. Dez. 36 Temp. : 18,4° C

Abb. 7 Methylenchlorid in alkoholischer Lösung.



a = 16. Dez. 36. Temp. : 19,8° C
b = 18. Dez. 36. Temp. : 20,5° C
c = 21. Dez. 36. Temp. : 20,0° C

Abb. 8 Methylenchlorid in alkoholischer Lösung.



a = 20. Mai 37. Temp. : 26,6° C
b = 22. Mai 37. Temp. : 26,8° C
c = 24. Mai 37. Temp. : 25,8° C

Abb. 9 Methylenchlorid in alkoholischer Lösung.

Zeit	Nährboden	5 % in 40%igem Alkohol			40%iger Alkohol		
		Stamm 3	5	6	3	5	6
1'	L	–	–	–	+	+	+
	T	–	–	–	+	+	+
5'	L	–	–	–	+	–	+
	T	–	–	–	+	–	+
10'	L	–	–	–	+	–	+
	T	–	–	–	–	–	+
15'	L	–	–	–	+	–	–
	T	–	–	–	+	–	–
20'	L	–	–	–	–	–	–
	T	–	–	–	–	–	–

Temp.: 16,2° C konstant.

Die vorliegenden Versuchsergebnisse zeigen in Abb. 6 und 7 eine Verbesserung der Wirkung des 40%igen Alkohols durch Zusatz von Methylenchlorid, die bei 5%igem Zusatz am deutlichsten ist. Mit Ausnahme der Stämme 2, 5 und 6 war in der ersten Versuchsreihe kein Wachstum bei 5%igem Zusatz zu beobachten. Deshalb wurden zur Festigung des Ergebnisses nochmals dreimalige Versuche mit der gleichen Konzentration angestellt, und Abb. 8 zeigt das Resultat. In einem Versuch wurde bei den Stämmen 3, 5 und 6 noch Wachstum festgestellt.

Die Stämme 5 und 6 zeigten zwar nicht die goldgelbe Farbe der Kolonien, wie sie Staphylococcus pyogenes aureus sonst aufwies, aber im übrigen (Hämolyse) war kein Unterschied von den anderen Stämmen festzustellen.

Die Ursache für das sich widersprechende Ergebnis des einen Versuches wurde vielmehr darin gesehen, daß die Temperatur während der Suspensionsversuche doch zu hoch geworden war, was sich besonders auf das leichtflüchtige Methylenchlorid auswirkte, sodaß es am Rande des Flüssigkeitsspiegels in den Blockschälchen leicht zur Verdampfung kommen konnte. Die Keime, die dabei austrockneten und am Glase anklebten, gelangten beim Umrühren wieder in die Aufschwemmung zurück und hatten nun beim Ueberimpfen eine

viel zu kurze Desinfektionszeit hinter sich, was zu Fehlergebnissen führen mußte.

Deshalb wurde mit den fraglichen Stämmen 3, 5 und 6 ein nochmaliger Versuch angestellt. Dieser wurde auf einer konstant auf 16,2° C gekühlten Glasplatte vorgenommen, wodurch bezweckt wurde, daß die Aufschwemmung in den Blockschälchen stets die gleichniedere Temperatur hatte.

Das Ergebnis dieses Versuches zeigt nun die Abb. 9, die erkennen läßt, daß die Forderung einer konstanten niederen Temperatur berechtigt gewesen ist. Bei 5%igem Methylenchloridzusatz war diesmal, ebenso wie vorher bei den anderen Stämmen, eine sofortige keimtötende Wirkung zu beobachten, während in den Versuchen mit 40%igem Alkohol ebenfalls wieder Bakterienwachstum eintrat.

Zusammenfassung.

In einer Reihe von Versuchen wird gezeigt, in welcher Weise die bakterientötende Wirkung des 48%igen Alkohols durch Zusätze von Äthylglycolacetat und von Methylglycol (0,1 bis 20 %) verändert wird.

Bei Äthylglycolacetat ist außer 0,1 % und 1%igem Zusatz keine Verbesserung, vielmehr eine Verschlechterung der Wirkung bei höheren Zusätzen zu sehen. Ähnlich verhält es sich mit Methylglycol, wo der 0,5%ige Zusatz noch die besten Ergebnisse zeigte. Von beiden Mitteln hatten also nur die niedrigsten angewendeten Zusätze (0,1, 0,5, 1 %) eine bessere desinfizierende Wirkung erzielen lassen, als sie dem 48%igen Alkohol zu eigen war.

Dagegen zeigt Methylenchlorid etwas andere Eigenschaften. In verschiedenen Versuchen wurde eindeutig eine gute Verbesserung der keimtötenden Wirkung des 40%igen Alkohols bei 5%igem Zusatz von Methylenchlorid gefunden.

Vom rein bakteriologischen Gesichtspunkt aus könnte deshalb wohl eine praktische Verwendung des Mittels als 5%iger Zusatz zu 40%igem Alkohol für die Händedesinfektion in Erwägung gezogen werden. Wie jedoch der eine große Nachteil, daß es sehr leicht flüchtig ist (Siedepunkt 40^0—41^0 C), damit zu vereinbaren ist, wäre noch festzustellen.

Zum Schlusse meiner Ausführungen sage ich Herrn Professor Dr. Knorr für die Ueberlassung des Themas, sowie Herrn Dr. med. et phil. habil. P. Oesterle für die Anregungen und die Unterstützungen während der Versuche meinen ergebensten Dank.

Schrifttum.

Lange, Bruno: Keimmenge und Desinfektionserfolg. Zeitschr. f. Hyg. 1922, Bd. 96, S. 2.

Greveling: Inaug. Diss. Würzburg 1936.

Rösser: Inaug. Diss. Würzburg 1937.

Lebenslauf.

Am 10. August 1913 wurde ich als erster Sohn des verstorbenen Dentisten Alfred Breustedt und seiner Ehefrau Laura, geb. Boller, zu Steinach Thür. geboren.

Von Ostern 1924 bis 1933 besuchte ich die Oberrealschule in Coburg, nachdem ich vorher 4 Jahre die Volksschule in Steinach besucht hatte. Im März 1933 bestand ich die Reifeprüfung und begann im Sommer-Semester 1933 mein Studium der Zahnheilkunde an der Universität Würzburg.

Nach bestandener zahnärztlicher Vorprüfung unterbrach ich von Okt. 34 bis Okt. 35 mein Studium und leistete ein Jahr Wehrdienst ab.

Das zahnärztliche Staatsexamen habe ich am 17. April 1937 in Würzburg bestanden.

Ehrenwörtliche Erklärung.

Ich erkläre hiermit ehrenwörtlich, daß ich außer dem angegebenen Schrifttum keine anderen Hilfsmittel benutzt habe.

Würzburg, den 1. Juni 1937.

Eitel Breustedt.

Gedruckt bei Bernh. Behncke, Steinach Thürw.